

⑫ 公表特許公報(A)

平3-505462

⑬ 公表 平成3年(1991)11月28日

⑭ Int. Cl.³

A 61 K 45/06

識別記号

ABN
ABR
ADD

庁内整理番号

8415-4C
8415-4C
8415-4C※

審査請求 未請求

予備審査請求 未請求

部門(区分) 3(2)

(全 11 頁)

⑮ 発明の名称 治療用化合物、組成物およびその使用

⑯ 特 願 平2-505651

⑰ 出 願 平2(1990)4月10日

⑱ 翻訳文提出日 平2(1990)12月10日

⑲ 国際出願 PCT/GB90/00540

⑳ 国際公開番号 WO90/11769

㉑ 国際公開日 平2(1990)10月18日

優先権主張 ㉒ 1989年4月10日 ㉓ イギリス(GB) ㉔ 8908023.8

㉕ 発明者 ネイ, アースラ, メリイ

イギリス国 エスイー24 0 エイエイ ロンドン, フェーンデイー
ン ロード 98

㉖ 出 願 人 セルテック リミテッド

イギリス国 エスエル1 4 イーエヌ スラウ, パス ロード 21
6

㉗ 代理人 弁理士 浅村 皓 外3名

㉘ 指 定 国 AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域特許), FR(広域特許), GB(広域特許), IT(広域特許), JP, KR, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特許), US

最終頁に続く

浄書(内容に変更なし)

請 求 の 範 囲

(1) 脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用して使用するための血管拡張剤とカルシウム拮抗剤

(2) 脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用して使用するためのカルシトニン遺伝子関連ペプチドとニモジピン

(3) 有効量のカルシウム拮抗剤と血管拡張剤を投与する、脳血管への血液供給が欠乏したヒト対象の処置方法

(4) 血管拡張剤とカルシウム拮抗剤からなる医薬組成物

(5) 単位用量剤形の医薬組成物であつて、各単位用量は脳血管への血液供給を選択的に上昇させる作用を示し、血圧には実質的に影響せずまた心拍数を有意に上昇させない量の血管拡張剤とカルシウム拮抗剤からなり、これらを医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤と配合してなる医薬組成物

(6) 医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤、血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤を混合することからなる請求項(5)記載の医薬組成物の製造方法

(7) 脳血管への血液供給の欠乏の処置用の医薬の製造のための血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の組合せての使用

(8) 活性成分として血管拡張剤をカルシウム拮抗剤

を組合せた脳への血液供給の欠乏の治療用薬剤

(9) 血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せてなる脳血液供給改善剤

(10) 患者に血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せて投与する脳への血液供給の欠乏の処置方法

治療用化合物、組成物およびその使用

発明の分野

本発明は、脳への血液供給の欠乏の処置における血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の併用使用およびそれらを含む医薬組成物に関する。とくに本発明は、脳への血液供給の欠乏の処置における CORP とニモジピンの使用およびそれらを含む組成物に関する。

発明の背景

カルシウムは細胞機能の必須成分である。全身および冠の動脈、ならびに脳組織を含む体内の多くの他の組織が、細胞膜を横切るカルシウムの移動によつて影響される。たとえば、心臓および血管平滑筋の収縮過程は、細胞膜に存在する特異的なイオンチャネルを通過して、細胞外カルシウムが細胞内へ移動することに依存している。カルシウムチャネル遮断剤は、スローチャネル遮断剤またはカルシウム拮抗剤とも呼ばれ、細胞膜を横切るカルシウムイオンの移動を抑制する能力を有する。

カルシトニン遺伝子関連ペプチドは、カルシトニン遺伝子発現系の産物である。カルシトニン遺伝子から転写される RNA の別のプロセッシングにより、神経組

用が、ヒトでの脳への血液供給の欠乏の処置に有用であることを見出した。

発明の要約

したがって、本発明はその第一の態様として、脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用するための血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤を提供する。

脳への血液供給の欠乏の処置に有用であるためには、治療剤は、血液供給が所望の部位において上昇するように、脳血管床に選択的に作用できることが必須である。さらに必要な要求としては、血液供給は血圧を実質的に低下させることなく上昇されねばならないことがある。また、治療剤は所望の効果を、心拍数を有意に上昇させることなく達成することが望ましい。脳血管の収縮を逆転させるために現在行われている治療法は、同時に血圧を低下させ、そのために根源の問題を増悪させることから満足できるものではない。さらに、現在用いられている治療法の一部は、望ましくない心拍数の増加を伴うことがある。したがって、現在の治療法に付随する副作用のない、脳血流の回復および/または脳血管収縮の逆転のための有効な処置が現実に望まれている。本発明者らは、適当量のカルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併用投与によつて、要求される作用部位の選択性と所望の脳への血液供給の増大の両者が、血圧への実質的影響および心拍数の有意な上昇を

成では CORP、37 アミノ酸ペプチドの産生が起こる。CORP は多くの種、たとえばラット、ニワトリおよびヒトで発見されている。CORP は、互いに数個未済のアミノ酸が異なるのみのきわめて類似した近縁化合物群である。CORP は、これまで、血管を拡張させ血圧を低下させるというその心臓血管系に対する性質により、主として高血圧症の処置に有用であると報告されている。CORP はまた、カルシウムの調節および胃酸分布にも関与すると考えられている。

脳への血液供給は、多くの原因、たとえば脳血管収縮によつて欠乏することがある。頸動脈の脳血管収縮は脳出血に対する生体の自然の反応で、脳への血液の供給を遮断する。

脳出血たとえばクモ膜下出血は、脳内の脆弱化血管の破裂や頭部の機械的傷害(外傷)等、多くの原因がある。脳への血液の供給、すなわち酸素の供給が回復しないと、脳血管収縮は通常、脳傷害を、そして時には死を招くことになる。

脳への血液の供給は、梗塞すなわち脳血管の閉塞または脳出血を生じる脳血管の破裂のいずれかによる卒中的の場合にも欠乏する。

脳への血液供給はまた、片頭痛発作の間にも遮断され、したがって脳への血液供給の回復により片頭痛発作の症状を緩和させることが可能である。

本発明者らは、カルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併

生じることなく達成できることを見出したのである。

カルシウム拮抗剤のニモジピンと血管拡張剤の CORP の併用は、全く予期し得なかつた相乗効果を生じる。公告された国際特許出願第 WO 89/03686 号に記載の脳血管血流の欠乏の処置への CORP の使用は一般に、心拍数の増加を伴い、これを減弱または消失させることが望ましい。本発明者らは、CORP とニモジピンの併用により、驚くべきことに、CORP 関連の心拍数の増加の減弱または消失を生じることを見出した。標準的な薬理学的原則からの期待では、心拍数に対する CORP の作用は強力で、CORP にニモジピンを併用してもなお心拍数の上昇が起こるものと考えられた。

さらに、CORP のニモジピンとの併用では、内頸動脈への血流の改善を生じる。血流は、各薬剤を単独に使用した場合より高レベルに達し、それは個々の場合のレベルの和よりも高くなる。

これは、CORP とカルシウム拮抗剤の併用によつて、望ましくない作用を生じることなく、所望の治療効果が達成できることを意味し、この場合、各活性成分は、いずれかの化合物を単独で投与して同じ効果を達成するために要求されるよりも低用量、たとえば 10 分の 1 の用量投与すればよい。

カルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併用は、驚くべきことに、望ましくない付加的な作用は何ら生じない。たとえば、CORP もニモジピンも十分高用量を投与す

れば降圧作用を発現し、両者の併用はいずれかの化合物の単独では血圧に影響しない用量でも血圧への作用が認められる相加的降圧作用を生じることが予測された。しかしながら、このような作用は全くみられなかった。

カルシウム拮抗活性を有する化合物には多くの種類がある。たとえば、フェニルアルキルアミンとその誘導体たとえばベラパミール；ベンゾチアゼピンとその誘導体たとえばジルチアゼム；ジフェニルアルキルアミンとその誘導体たとえばプレニルアミン；シンナミル；ジフェニルメチルピペラジンとその誘導体たとえばシンナリジンおよびフルナリジン、ならびに英国特許第1,173,862号、ドイツ特許第DE 2,407,115号および米国特許第3,485,847号に記載のジヒドロピリジン誘導体がある。ジヒドロピリジン誘導体たとえばニフェジピン〔1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(2-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸ジメチルエステル〕、ニフェジピン〔1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(3-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸メチル2-[メチル(フェニルメチル)アミノ]エチルエステル〕およびニモジピン〔1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(3-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸イソプロピル(2-メトキシエチル)エステル〕が好ましい。本発明者らは、ニモ

ジピンがとくに有用であり、ニモジピンと血管拡張剤の併用がとくに好ましい。

本明細書で用いられる血管拡張剤の語は、血管の拡張を生じ、直接カルシウムチャネルの遮断を起こさず、カルシウム拮抗剤と併用した場合には脳血管床に優先的に作用して血圧には実質的に影響をもたらすことなく脳への血液の供給を特異的に増大する化合物を指している。

本発明に使用される血管拡張剤は好ましくは、単独でもまたカルシウム拮抗剤と併用しても、実質的に血圧に影響することなく、脳血管床に優先的に作用して脳への血液供給を特異的に増大させる。所望の活性像を示すこのような血管拡張剤の例には、CORPおよび本明細書においてはCORPの語で呼ばれる天然のCORP以外の、CORPに特徴的な脳血管血流供給作用を有する、すなわち、実質的に血圧に影響することなく脳血管床に優先的に作用して脳への血液供給を特異的に増大させる、たとえば1989年10月20日出願の国際特許出願第PCT/DE 89/01249号に記載されているような、その生物活性フラグメント、類縁体および誘導体が包含される。CORP、フラグメント、類縁体および誘導体は、天然に存在するものであつてもよく、また化学的にたとえば化学的修飾、切断もしくは合成により製造されてもよく、また置換えDNA技術を用いて製造されてもよい。フラグメント、類縁体お

よび誘導体は非ペプチド化合物またペプチド化合物を包含してもよい。CORPは、動物CORPたとえばラットもしくはニワトリCORPでもよいが、ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチド(hCORP)であることが好ましい。ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチドは、たとえば米国特許第4,549,986号に記載されているα-hCORPおよび欧州特許出願第EP 1 884 004号に記載されているβ-hCORPとして知られている少なくとも2種の型で存在する。α-hCORPの使用がとくに好ましい。

本発明においては、CORPとニモジピンの併用がとくに好ましい。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の併用は、たとえばクモ膜下出血、卒中、外傷および片頭痛に伴うヒトの脳血管血液供給の欠乏の処置にとくに有用である。

本発明の第二の態様によれば、本発明は、脳血管血液供給の欠乏を生じているヒト対象の処置方法において、その対象にカルシウム拮抗剤と血管拡張剤の有効量を投与する方法を提供する。

通常用いられる血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の量は、その併用が血圧に実質的に影響を与えず、心拍数を有意に上昇させることなく脳血管の血液供給を特異的に増大させるのに有効な量である。

第三の態様においては、本発明は、血管拡張剤ならびにカルシウム拮抗剤からなる医薬組成物を提供する。

第四の態様においては、本発明は単位剤形からなる医薬組成物を提供し、この場合、各単位剤形は、血圧に実質的に影響を与えず、心拍数を有意に上昇させることなく脳血管の血液供給を特異的に増大させる血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の量を、医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤と混合したものである。

本発明の第四の態様による医薬組成物は、好ましくはCORP 0.01~1620 μg、CORPを好ましくは0.08 μg~1260 μg、CORPをさらに好ましくは5~1260 μg、CORPをとくに好ましくは5~900 μg；好ましくはニモジピンを0.07~84 mg、ニモジピンをさらに好ましくは0.35~4.2 mg、ニモジピンをとくに好ましくは0.7~3.0 mg含有する。

本発明の第五の態様においては、本発明は、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤を、医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤と緊密に混合することからなる本発明の第四の態様の医薬組成物の製造方法を提供する。

第五の態様においては、本発明は、血圧に実質的に影響を与えず、心拍数を有意に上昇させることなく、脳血管血流の供給を特異的に増大させるのに十分な単位用量の約数になる量を医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤と緊密に混合することからなる単位剤形の医薬組成物を製造する方法を提供する。

第六の態様においては、本発明は、脳血管血液供給の欠乏の処置用医薬の製造のための、血管拡張剤の、

カルシウム拮抗剤との併用による使用を提供する。

第七の題様においては、本発明は、活性成分として、血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せた、脳の血液供給の欠乏の治療用薬剤を提供する。

第八の題様においては、本発明は、血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せてなる脳の血液供給改善剤を提供する。

第九の題様においては、本発明は、患者に血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せて投与することからなる脳の血液供給欠乏の処置方法を提供する。

本発明の方法による血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の投与に際しては多数の方法があつて、任意に選択できることを理解すべきである。たとえば、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は任意の順序で、各投与間に任意の間隔を置いて順次投与することができる。別法として、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は共投与することもできる。本明細書において用いられる共投与の語は、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤を一緒に処方して単一の医薬製剤で投与する場合、また血管拡張剤とカルシウム拮抗剤を別個に処方して同時に投与する場合を含む。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は、たとえば一方は経口投与用に処方し、他方は静脈内投与用に処方するなど、別個に処方することもできる。

好ましくは、血管拡張剤は静脈内投与用に、カルシウム拮抗剤は経口投与用に処方される。とくに好まし

て提供することもできる。このような液体製剤は、医薬的に許容される添加剤、たとえば、懸濁剤、乳化剤、非水性ビヒクルおよび防腐剤を用い、慣用手段によつて製造することができる。これらの製剤にはまた、緩衝塩、フレーバー、着色剤および甘味剤を適宜加えることもできる。

経口投与用製剤は、活性化合物の制御放出が可能ないように適当に製剤化することもできる。

経鼻投与用には、組成物を慣用様式により、錠剤またはロゼンジの形態とすることができる。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、注射たとえば単回注射または連続注入による非経口投与用に製剤化することもできる。注射用製剤は単位用量剤形として提供することができる。組成物は、油性または水性ビヒクル中、たとえば懸濁液、溶液または乳化液のような形態とし、懸濁剤、安定剤および／または分散剤のような調剤試薬を含有させることができる。別法として、活性成分は、使用前に適当なビヒクルたとえば滅菌したパリエジエンを含まない水で調製するための粉末形態とすることもできる。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、たとえばココ脂または他のグリセライドのような慣用の坐剤基剤を含有する坐剤または停滯腸腸剤のような経直腸組成物に製剤化することもできる。

上述の製剤に加えて、血管拡張剤およびカルシウム

拮抗剤は、血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の両者が静脈内投与用に処方される。

本発明に使用される医薬組成物は、慣用の方式によつて、所望により1種または2種以上の生理的に許容される担体、希釈剤または賦形剤とともに製剤化することができる。

本発明に使用される血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、経口、経鼻、非経口もしくは経直腸投与用に、または経鼻投与もしくは吸入あるいは気体担体中投与に適当な形態に処方できる。

経口投与用には、医薬組成物はたとえば、医薬的に許容される賦形剤たとえば結合剤（たとえば、ゲル化トモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、充填剤（たとえば、乳糖、微結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）、崩壊剤（たとえば馬鈴薯デンプンまたはグリコール酸ナトリウム）、または湿潤剤（たとえばラウリル硫酸ナトリウム）を用いて慣用手段で製造される錠剤またはカプセル剤の形態とすることができる。錠剤は本技術分野においてよく知られた方法によつてコーティングを施してもよい。経口投与用の液体製剤は、たとえば、溶液、シロップまたは懸濁液の形態とすることができ、また使用前に水もしくは他の適当なビヒクルにより調製される乾燥製品とし

拮抗剤はデポ製剤として製剤化することもできる。このような長時間作用型製剤は埋没または筋肉内注射によつて投与できる。

経鼻投与または吸入投与用には、本発明に用いられる化合物は、適当な噴射剤たとえばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適当な気体を用い、エアゾルスプレーの形態で耐圧容器またはネブライザーから送達させるのが便利である。

所望により、この組成物は、活性成分含有単位用量剤形1個または2個以上を含むパックまたはデイスペンサー装置として提供することもできる。パックまたはデイスペンサー装置には投与の指示書が添付される。

本発明の第一から第九までの題様の好ましい実施態様においては、カルシウム拮抗剤はニモジピンであることが好ましく、血管拡張剤はCORPであることが好ましく、さらに好ましくはヒトCORP、とくに好ましくはヒト α -CORPである。

カルシウム拮抗剤と血管拡張剤を組合せてヒトに投与する場合の用量は、脳血流が選択的に上昇し、血圧には実質的に影響がなく、また心拍数には有意な上昇のないような用量である。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の正確な用量は、投与経路、その血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の強さ、ならびに患者の体質および病状によつて決定される。重要な因子は、標的血管

床に存在する血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の濃度と考えられる。所望の効果をj得るために患者に投与すべき血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の用量は、個々の患者につき、カルシウム拮抗剤と組合せて低用量の血管拡張剤を10～20分間投与し、ついで所望の効果が認められるまで10～20分毎に用量を増加させて決定される。血管拡張剤たとえば CORP は、平均的な70kgのヒトの場合、0.01～32mg/kg/分の範囲、好ましくは0.06～24mg/kg/分の範囲、さらに好ましくは2～24mg/kg/分の範囲、とくに好ましくは2～16mg/kg/分の範囲の用量でIV注入によつて投与できる。たとえばα-CORPおよびβ-CORPは平均的な70kgのヒトの場合、2mg/kg/分～6mg/kg/分の用量を20分の時間を要してIV注入により投与される。場合によつては、患者に、CORPをもつと長時間、たとえば1時間までもしくはそれ以上たとえば12時間、または24時間以上にわたつて注入することが望ましい。

カルシウム拮抗剤たとえばニモジピンは、平均的な70kgのヒトの場合、1～100μg/kg/時の範囲、好ましくは5～50μg/kg/時の範囲、とくに好ましくは10～35μg/kg/時の範囲の用量でIV注入により投与できる。

経口投与の場合は、カルシウム拮抗剤は、平均的な70kgのヒトで、0.05～20mg/kgの範囲、好まし

くは0.5～8mg/kgの範囲の用量を投与できる。

カルシウム拮抗剤およびカルシウム非依存性血管拡張剤は、必要なだけ頻回に投与することができる。たとえば1日に2回以上、たとえば1日に2～6回投与される。処置時間はたとえば20分～24時間であり、この処置時間はたとえば21日まで継続してもよい。

本発明に使用されるカルシウム拮抗剤は、標準的化学操作を用いて得ることができる。たとえば、ニモジピンは英国特許第1173862号の記載に従い、ニカルジピンはドイツ特許第DE2407115号の記載に従い、またニフェジピンは米国特許第3485847号の記載に従つて製造できる。

本発明に使用されるCORPは、英国特許第2141430B号および公開欧州特許出願第EP-A-188400号の記載に従い、組換えDNA技術を用いて得ることができる。別法として、CORPは、本技術分野においてよく知られている慣用方法により、たとえば公開欧州特許出願第EP-A-188400号の記載に従い、化学合成によつても製造できる。

CORPとニモジピンのようなカルシウム拮抗剤との組合せは、所望の作用像すなわち、脳血管床に選択的に作用し、血圧に実質的に影響せず、心拍数を有意に上昇させないことから、脳への血液供給の欠乏の処置にとくに有用である。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤が脳血管への血

液供給を選択的に増大させる能力は、以下の実施例に述べるように、ドプラ法を用いて動物およびヒトで試験できる。血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の血圧および心拍数に対する作用は、慣用方法を用いて測定できる。

図面の簡単な説明

CORPおよびニモジピンによつて生じる脳血管血液供給の選択的増加は、以下に記載するドプラ法を用いたラットにおいて、添付の図面に示すように明らかにされた。

第1図は、ラットに30分間様々な濃度のCORPおよびニモジピンをそれぞれ別個に注入した場合の心拍数、平均動脈圧、ならびに内頸動脈への血流量および血流速度に対する影響を示すグラフである。

- 0.06 nmol CORP/時
- 0.6 nmol CORP/時
- 60 nmol ニモジピン/時
- 600 nmol ニモジピン/時

第2図は、ラットに30分間0.06 nmol/時のCORPと60 nmol/時のニモジピンを併用注入した場合の、心拍数、平均動脈圧、ならびに内頸動脈への血流量および血流速度に対する影響を示すグラフである。

第3図は、無麻酔Long Evans ラット(n=8)におけるヒトα-CORPおよび/またはニモジピンに対す

る心臓血管系応答を示すグラフである。

左側のパネルは、ヒトα-CORP(●—●, 0.06 nmol·h⁻¹)もしくはニモジピン(▲—▲, 60 nmol·h⁻¹)またはヒトα-CORP(0.06 nmol·h⁻¹)プラスニモジピン(60 nmol·h⁻¹)(○—○), 30分注入に対する応答を示す。値は平均±SEMである。

右側のパネルは、ヒトα-CORP(●—●, 0.6 nmol·h⁻¹)もしくはニモジピン(▲—▲, 600 nmol·h⁻¹)またはヒトα-CORP(0.6 nmol·h⁻¹)プラスニモジピン(600 nmol·h⁻¹)(○—○), 30分注入に対する応答を示す。値は平均±SEMである(n=8)。

特定の態様の説明

例1

この一連の実験は、様々な用量のCORPおよびニモジピンを別個にまたは併用して投与した場合の脳血流および血圧への影響を測定するために企画された。

雄性Long Evans ラット(350～400g)を使用した(n=8)

ナトリウムメトヘキシトン(60mg/kg, IP)麻酔下に、左側外頸動脈を結紮し(410絹縫糸)、小型パルスドプラ消息子を左側結頸動脈の周囲に縫合した(内頸動脈流量のモニタリング用)。

消息子移植後7～10日に、動物を再び麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、40 mg/kg、IP)、カテーテルを血圧記録のために腹大動脈に(尾動脈を介して)、また薬剤/ペプチド投与のために右頸静脈に植え込んだ。

実験は、カテーテルの植え込み後1～2日目に、完全な覚醒し自由に運動させた動物で実施した。

第1日: ニモジピンビヒクル

ニモジピン(60 nmol/時)

ニモジピン(600 nmol/時)

第2日: CGRP(0.06 nmol/時)

CGRP(0.6 nmol/時)

CGRP(0.06 nmol/時)プラス

ニモジピン(60 nmol/時)

注入は30分間0.3 ml/時で行った。

各注入の間には少なくとも60分の間隔を置いた。

ニモジピンビヒクルの組成は

999g ポリエチレングリコール400

100g 蒸留水

60g グリセリン

とした。

ニモジピン溶液はすべて暗室中黄色フィルター(約550 nm)下に調製した。

ニモジピンの投与に使用したシリンジおよびカテーテルは黒の遮蔽で光から保護した。

表1

CGRP 0.06 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+37(19)	+33(14)	+30(12)	+25(13)	+12(15)	+7(9)
△動脈圧(mmHg)	0(1)	-2(1)	-1(1)	-1(2)	+1(2)	0(1)
△CDS(%)	+10(3)	+14(4)	+8(5)	-10(2)	-4(6)	-2(3)
△CVR(%)	-9(2)	-13(4)	-6(5)	+11(4)	+8(6)	+4(4)
CGRP 0.6 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+92(17)	+99(14)	+91(13)	+14(7)	-9(9)	-6(14)
△動脈圧(mmHg)	-15(1)	-14(2)	-15(2)	+1(2)	+3(3)	+1(2)
△CDS(%)	+45(9)	+54(7)	+48(6)	+7(4)	+2(6)	+8(5)
△CVR(%)	-40(3)	-43(2)	-42(2)	-4(6)	+4(9)	-5(6)
ニモジピン 60 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	-6(9)	-1(9)	-14(14)	-18(9)	+2(10)	+3(10)
△動脈圧(mmHg)	+2(2)	+2(3)	+3(4)	-1(3)	+4(2)	+3(2)
△CDS(%)	+16(4)	+6(4)	+4(4)	+2(4)	-1(3)	-2(4)
△CVR(%)	-11(4)	-3(5)	+1(6)	-2(6)	+5(3)	+6(3)
ニモジピン 600 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+34(16)	+29(18)	+27(15)	+14(12)	+6(8)	+5(7)
△動脈圧(mmHg)	-19(2)	-17(4)	-19(1)	-9(2)	-6(2)	-5(2)
△CDS(%)	+32(8)	+32(8)	+40(10)	+33(10)	+29(14)	+29(9)
△CVR(%)	-37(4)	-36(4)	-40(4)	-29(5)	-22(8)	-23(7)
CGRP 0.06 nmol/時+ニモジピン60 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+13(8)	+4(9)	+14(15)	+1(11)	-13(8)	+13(15)
△動脈圧(mmHg)	-3(3)	-1(3)	-4(3)	+3(2)	+3(1)	+3(1)
△CDS(%)	+30(5)	+27(5)	+40(10)	+15(5)	+14(5)	+10(7)
△CVR(%)	-25(3)	-22(3)	-30(4)	-10(4)	-8(4)	-4(5)

値は平均(S.E.M), n=8

CDS = 内頸動脈ドプラーシフト(血流)

CVR = 内頸動脈血管抵抗

CGRP(ヒトα)は1%ウシ血清アルブミン含有食塩水に溶解した。

結果は、表1、図1および図2に示す。

CGRP 0.06 nmol/時およびニモジピン60 nmol/時の併用投与により、いずれかの化合物の単独投与で認められる効果より大きく、またそれらの用量での相加効果より大きい脳血流量の増加を生じた。これは相加的な降圧作用を生じることなく達成された。

例2

この一連の実験は、CGRPおよびニモジピンの、内頸動脈血管、局所循環、ならびに心拍数および血圧のような生理学的パラメーターに対する作用をみるために企画された。

実験はすべて、雄性 Long Evans ラット(350～450g)について実施された。動物は麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、60 mg/kg、i.p., 必要に応じて追加)、以下の操作のひとつが行われた。

a) 左側外頸動脈を結紮したのち、同側の総頸動脈の周囲にパルスドプラー消息子を植え込む(Haywoodら、1981)。この配置により、開存の内頸動脈を通過する血流の評価が可能であった。

b) 左側腎および上腸間膜動脈ならびに回盲動脈のレベル以下の遠位腹大動脈の周囲へのパルスドプラー消息子を植え込む(下肢への血流のモニタリング)

7～14日間の回復期ののち、動物を再び軽く麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、40 mg/kg)、薬剤またはペプチド投与用(頸静脈)、ならびに腹大動脈からの瞬間心拍数(HR)および血圧(BP)記録用(尾動脈を介して)のカテーテルを植え込んだ。実験は翌日から開始し、3日間にわたって実施した。

プロトコールは、無麻酔、無拘束動物からの、平均BP、HRおよびドプラーシフトの植え込み消息子からの連続記録を包含した。局所血流および血管抵抗の百

分率変化は、他の記載 (Gardiner ら, 1989, Am. J. Physiol., 256, R332~338) に従って計算した。

以下のプロトコールを実施した。

内頸動脈消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP (0.06 または 0.6 nmol/時) を 30 分間注入した。

測定は、注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

2 ニモジピンビヒクルの作用

ニモジピンビヒクル (以下参照) を 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン (60 または 600 nmol/時) を 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

4 ヒト α -CGRP プラスニモジピンの作用

ヒト α -CGRP とニモジピン (それぞれ 0.06 および 60 nmol/時、またはそれぞれ 0.6 および 600 nmol/時) を同時に 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

腎、腸間膜および下肢消息子を施した動物

上記プロトコール 1) ~ 4) を腎、腸間膜および下

ニモジピンビヒクルの注入は、HR の有意な ($P < 0.05$) 低下 (30 分で -23 ± 9 回/分) およびわずかな平均 BP の上昇 (30 分で $+5 \pm 2$ mm Hg; $P < 0.05$) を生じたが、内頸動脈の血行動態には変化は認められなかった。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン 60 nmol/時の注入は、一過性の内頸動脈流量の増加と血管抵抗の低下を生じた (図 3)。高用量のニモジピン (600 nmol/時) は、血圧降下と、内頸動脈血管床にかなりの充血性血管拡張を生じた。これらの作用は、ヒト α -CGRP の場合と異なり、注入中止後も持続した (図 3)。

4 ヒト α -CGRP プラスニモジピンの作用

ヒト α -CGRP (0.06 nmol/時) をニモジピン (60 nmol/時) と一緒に注入すると、各化合物単独で認められたよりも有意に ($P < 0.05$) に大きな内頸動脈流量の増加と血管抵抗の低下を生じた (図 3 および表 2, 3, 4)。しかしながら、平均 BP および HR には有意な変化はなかった (図 3)。

ヒト α -CGRP (0.6 nmol/時) とニモジピン (600 nmol/時) の同時投与では、各化合物単独で認められた血管拡張は有意に増強されなかった (図 3)。ヒト α -CGRP の注入後、血管拡張は持続しなかったが、ニモジピンとヒト α -CGRP の注入後には、持続的な血管拡張がみられた (図 3)。しかしながら、この効果

肢消息子を施した動物 ($n = 8$) にも実施した。

薬剤およびペプチド

ヒト α -CGRP (Celltech Ltd) を 1% ヲシ血清アルブミン含有等張性食塩水に溶解し、ニモジピン (純品, Bayer, U.K.) は、PEG 400, 滅菌水およびグリセリン BP の 9.69 : 1.00 : 0.6 (重量比) 混合物に溶解した。ニモジピン溶液は、暗室で緑光下 (波長 500 nm 以下) に調製し、カテーテルおよびシリンジはすべて自然光に溶液が暴露されるのを避けるために遮蔽した。注入速度は 0.4 μ l/時とした。

統計処理

すべてのデータは、適宜ウィルコクソンの順位和検定またはマン-ホイットニーの U 検定により、ノンパラメトリックな分散分析 (フリードマン検定) に付した。

結果

内頸動脈消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP 0.06 nmol/時の注入は HR の増加と中等度の内頸動脈充血を生じ、それに伴って血管抵抗が低下した (図 3 および表 2 参照)。

ヒト α -CGRP 0.6 nmol/時の注入は、頻脈、血圧降下および内頸動脈血管床に著しい充血性血管拡張を生じた (図 3 および表 2 参照)。

2 ニモジピンビヒクルの作用

は、ニモジピン単独で認められた効果以上のものではなかった (図 3)。

腎、腸間膜および下肢消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP の注入は、用量依存性の頻脈、血圧降下ならびに腎および腸間膜血流の低下を生じ、これに下肢血流の増大を随伴した (表 2)。しかしながら、注入時には、下肢抵抗の変化のみが有意であつた (表 2)。高用量の注入後には、腸間膜血管抵抗の有意な増大を生じた (表 2)。

2 ニモジピンビヒクルの作用

ニモジピンビヒクルの注入は総体的な頻脈を生じたが、これは特定の時点において有意になることはなかった。平均 BP または局所血流の変化はみられなかった。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン 60 nmol/時の注入では有意な作用はなかった。しかしながら、600 nmol/時の速度でのニモジピンの注入は、平均 BP および腎血流量の低下を生じ、これに伴って HR および下肢血流量が上昇したが、腸間膜血流量には変化はなかった (表 3)。注入時、腸間膜および下肢抵抗は低下したが、腎血管抵抗は上昇の傾向を示した。実験後、注入後には腎血管抵抗はわずかながらさらに上昇し、全体的な変化は有意となつた (表 3 参照)。

由観下面積から評価すると、ニモジピン (600 nmol/時) の心臓血管作用はすべて、ヒト α -CORP (0.6 nmol/時) の作用に比べ有意差 ($P < 0.05$) を示した。

4. ヒト α -CORP とニモジピンの作用

ヒト α -CORP (0.6 nmol/時) とニモジピン (60 nmol/時) との共注入時には、ヒト α -CORP 単独で認められた頻脈および腸間膜血流量の低下とは対照的に、有意な頻脈も、腎または腸間膜血行動態の変化も認められなかった。ヒト α -CORP 単独でみられた一過性の作用と異なり、ヒト α -CORP とニモジピンの注入時を通じて下肢の血管拡張は持続し、この場合には注入後の遅延下肢血管収縮もみられた。

ヒト α -CORP (0.6 nmol/時) とニモジピン (600 nmol/時) の同時注入では、HR と腸間膜血流量を除くすべての心臓血管変数に、ヒト α -CORP 単独の場合よりも有意に ($P < 0.05$) 大きな作用を生じた。しかしながら、ヒト α -CORP とニモジピンを一緒に投与した場合には、ニモジピン単独で認められた以上の有意な血圧降下または腸間膜もしくは下肢血管拡張の増大は生じなかった (表3および4)。一方、ヒト α -CORP とニモジピンの併用投与は、ニモジピンまたはヒト α -CORP 単独で認められたよりも有意に大きな腎血流量の低下と腎血管収縮の増大を生じた (表3および4)。

結果

以上の結果は、低用量のヒト α -CORP とニモジピンは、相対的な内頸動脈血管拡張作用を発揮し、しかも他の局所循環への悪影響または全身の血圧降下を生じないことを示している。高用量のヒト α -CORP とニモジピンの共投与は、いずれかの化合物の単独に比べて、また低用量のヒト α -CORP とニモジピンの同時投与の効果に比べて、内頸動脈血管拡張作用の増大を生じることにはなかった。

表2 無麻酔 Long Evans ラットへのヒト α -CORP (0.6 nmol/時) および 0.6 nmol/時の注入時および注入30分後の心臓血管パラメーターの変化

(n = 8, 平均 (S.E.M.))

時間 (分)	ヒト α -CORP 0.6 nmol/時									
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
心拍数 (回/分)	+18(6)	+31(11)*	+25(7)*	+11(8)	-4(7)	+1(8)	+12(7)*	+14(5)*	+15(6)*	+3(5)
平均 BP (mmHg)	-4(2)	-3(2)	-3(2)	-1(2)	-2(3)	0(4)	-18(1)*	-17(3)*	0(2)	+3(2)
腎血流 (%)	-1(2)	-6(3)	-3(4)	-2(4)	-3(3)	-3(3)	-12(3)*	-14(3)*	-2(3)	0(4)
腸間膜血流 (%)	-7(3)	-10(3)*	-8(3)*	-4(2)	-6(3)	-1(2)*	-17(4)*	-22(4)*	-14(2)*	-9(5)
下肢血流 (%)	+11(11)	+5(4)	+6(6)	+0(4)	-1(7)	-3(5)	+24(5)*	+22(5)*	+31(8)*	+9(7)
腎抵抗 (%)	-3(4)	+3(4)	+2(4)	+3(4)	+1(5)	+4(6)	-6(4)	-4(2)	-2(4)	+4(4)
腸間膜抵抗 (%)	+5(6)	+9(5)	+7(4)	+4(4)	+5(5)	+11(5)	+1(6)	+10(6)	+8(6)	+15(5)*
下肢抵抗 (%)	-10(5)*	-7(3)	-6(5)	+1(4)	+2(7)	+5(6)	-33(3)*	-32(4)*	-35(3)*	-6(6)

* $P < 0.05$ ベースラインに対して (フリードマン検定)

表3 無麻酔 Long Evans ラットへのニモジピン (600 nmol/時) の注入時および注入30分後の心臓血管パラメーターの変化 (n = 8, 平均 (S.E.M.))

時間 (分)	ニモジピン 600 nmol/時									
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
心拍数 (回/分)	+78(11)*	+88(10)*	+81(8)*	+53(13)*	+39(14)*	+34(15)	+28(15)			
平均 BP (mmHg)	-27(3)*	-27(3)*	-30(3)*	-22(3)*	-15(2)*	-13(3)*	-11(2)*			
腎血流 (%)	-27(4)*	-32(4)*	-34(5)*	-60(4)*	-23(5)*	-15(4)	-11(4)			
腸間膜血流 (%)	+7(6)	-1(4)	+1(4)	+3(5)	+2(5)	+11(4)*	+7(4)			
下肢血流 (%)	+52(9)*	+52(10)*	+59(10)*	+43(10)*	+27(9)*	+27(8)*	+18(5)*			
腎抵抗 (%)	+4(5)	+12(5)	+13(5)	+15(4)*	+13(5)	+6(5)	+2(3)			
腸間膜抵抗 (%)	-29(5)*	-23(4)*	-28(3)*	-21(4)*	-15(4)*	-20(4)*	-15(4)*			
下肢抵抗 (%)	-50(3)*	-49(4)*	-63(5)*	-42(4)*	-30(5)*	-28(5)*	-23(4)*			

* $P < 0.05$ ベースラインに対して (フリードマン検定)

表4. 無麻酔 Long Evans ラットにヒト α -CPRD およびニモジピンの
注入時および注入30分後の心脈系パラメーターの変化
($n=8$, 平均 (S.E.M.))

時間 (分)	ヒト α -CPRD (0.06 nmol / 時)				+ ニモジピン (60 nmol / 時)			
	10	20	30	60	10	20	30	60
心拍数 (回/分)	+19(24)	+29(24)	+19(25)	-22(14)	+19(24)	+2(5)	-1(6)	-22(14)
平均 BP (mm Hg)	+1(5)	+2(5)	-3(3)	-1(2)	+1(5)	+2(5)	-1(6)	-1(2)
腎血流 (%)	0(3)	-1(3)	-2(3)	+5(3)	0(3)	-1(3)	-2(3)	+5(3)
腸間膜血流 (%)	+1(4)	-1(3)	+6(4)	+2(5)	+1(4)	-1(3)	+2(5)	+3(6)
下肢血流 (%)	+15(6)*	+3(4)	+14(9)	-16(5)*	+15(6)*	+3(4)	-9(6)	-15(5)*
腎抵抗 (%)	+1(3)	+4(3)	0(2)	0(3)	+1(3)	+4(3)	+3(5)	-3(4)
腸間膜抵抗 (%)	+3(6)	+5(6)	-8(4)	-1(6)	+3(6)	+5(6)	-1(7)	0(6)
下肢抵抗 (%)	-11(4)*	+1(3)	-12(6)*	+20(5)*	-11(4)*	+1(3)	+11(7)	+21(6)*

* $P < 0.05$ ベースラインに対して (フリードマン検定)

表4. (つづき)

ヒト α -CPRD (0.6 nmol / 時)
+ ニモジピン (600 nmol / 時)

10	20	30	40	50	60	70
+127(16)*	+124(8)*	+114(10)*	+102(9)*	+61(13)*	+58(18)*	+29(15)
-31(5)*	-35(5)*	-33(4)*	-14(3)*	-6(3)	-3(2)	-2(3)
-39(6)*	-48(4)*	-48(5)*	-34(5)*	-22(3)*	-15(3)*	-12(4)
-17(3)*	-21(3)*	-15(3)*	-6(3)	+3(4)	+4(3)	+5(4)
+33(6)*	+45(10)*	+48(10)*	+40(6)*	+27(7)*	+23(7)*	+15(7)
+19(12)	+32(11)*	+48(23)*	+33(7)*	+19(3)*	+16(4)*	+12(3)*
-16(5)*	-15(6)*	-19(4)*	-6(3)	-9(5)	-6(3)*	-6(4)
-46(5)*	-62(4)*	-62(5)*	-35(6)*	-25(6)*	-19(5)*	-12(5)

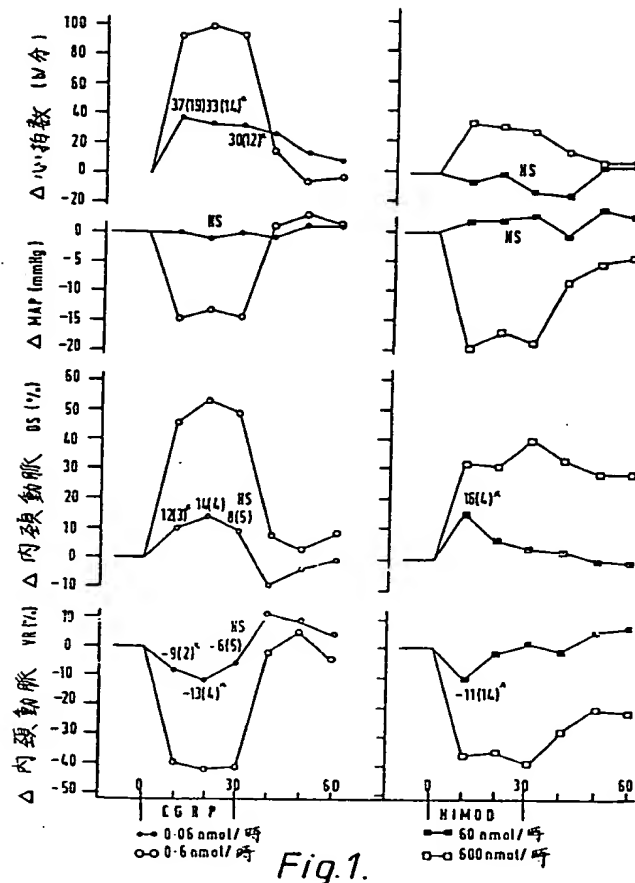


Fig.1.

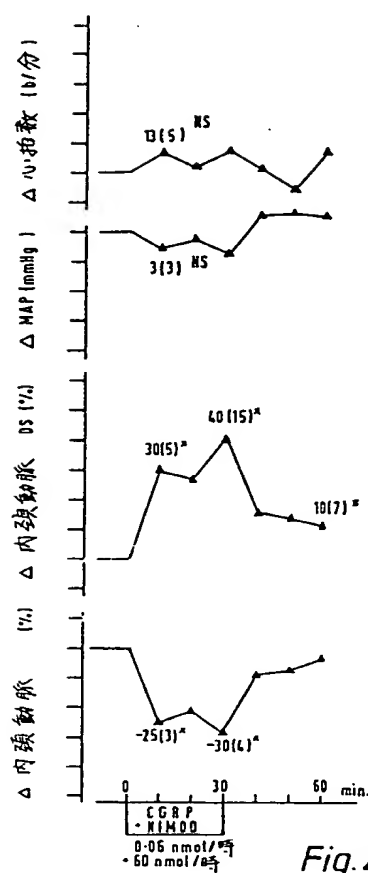


Fig.2.

明細書及び請求の範囲翻訳文の浄書
(内容に変更なし)

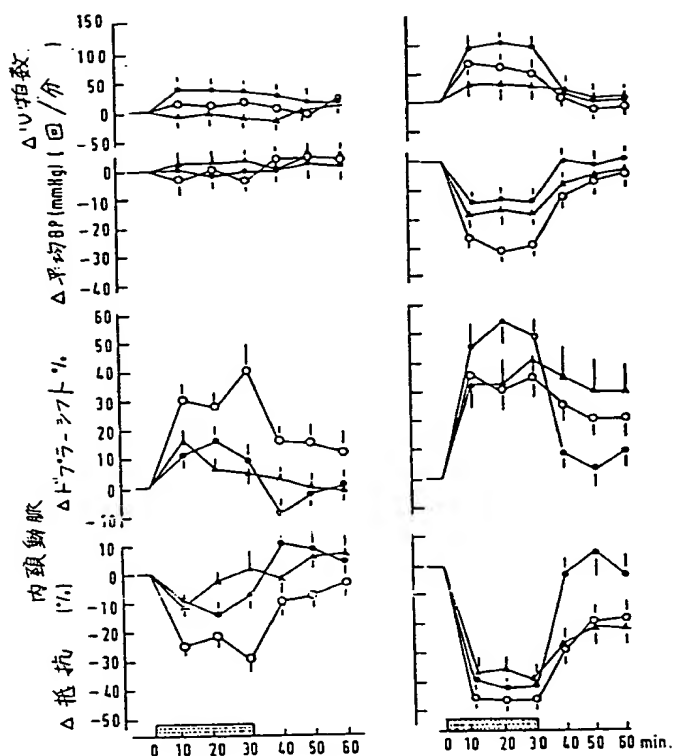


Fig.3.

國際調查報告

International Application No PCT/GB 90/00540

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IN PATENT DOCUMENTS (GENERAL ASPECT) INDICATE ONE *					
Addressing the International Patent Classification (IPC) or its basic scheme Classification and IPC					
IPC ^S : A 61 K 37/02,/(A 61 K 37/02, 31:44)					
B. FIELDS SEARCHED					
Minimum Documentation Searched *					
Classification System					
IPC ^S		A 61 K			
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *					
D. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT*					
Category * Citation as Document, ** with indication, where appropriate, of the relevant passages *** Reference to Claim No. **					
X	Brain Research, vol. 475, 1988, Elsevier Science Publishers B.V., R. Oku et al.: "Calcitonin gene-related peptide modulates calcium mobilization in synaptosomes of rat spinal dorsal horn", pages 356-360 see page 356, abstract -----				1
<p>* Patent subclasses of cited documents; **</p> <p>** Documents published after the international filing date or priority date and not contained in the set which is not determined by the particular document;</p> <p>** Documents of particular relevance; the reported relevance indicates the examination phase or extent to (pursuant to)</p> <p>** Documents of searching authorities; the reported relevance indicates the examination phase or extent to (pursuant to)</p> <p>** Documents published prior to the international filing date but later than the priority date specified</p> <p>** Nonofficial member of the same patent family</p>					
IV. CERTIFICATION					
Date of the Author Contribution of the International Search Report			Date of Issuing of the International Search Report		
1st August 1990			12 AUG 90		
International Searching Authority			Signature of Authorizing Officer		
EUROPEAN PATENT OFFICE			M. SOTELA		

International Application No. PCT/GB 90/00540

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

☒ **OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE ***

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☒ Claim numbers 1-8, because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

* - claims 3, 10
see PCT-Rule 39.1(IV) methods for treatment of the human
or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic
methods.

2. ☐ Claim numbers _____, because they relate to parts of the international application that do not comply with the provisions concerning
as to an extent that no meaningful international search can be carried out, namely:

3. ☐ Claim numbers _____, because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of
PCT Rule 8.4(a).

☐ **OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING ***

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As all requested additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims
of the international application.

2. ☐ As only some of the requested additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only
those claims of the international application for which fees were paid, notwithstanding:

3. ☐ No requested additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to
the claims first mentioned in the claims; it is entered by claim numbers:

4. ☐ As all searchable claims could be examined without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not
conduct searches of any claim other than:

5. ☐ As all searchable claims could be examined without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not
conduct searches of any claim other than:

6. ☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.

7. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

8. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA and PCT/ISAE (Annex) CIB January 1999

第1頁の続き

⑤Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

// A 61 K 37/24

8317-4C

⑦発明者	ベネット, テレンス	イギリス国 エヌジー7 2ジェイジェイ	ノッティンガムシャ ー, ダンカーク, シイテイ	ロード 26
⑧発明者	ガーディナー, シエイラ マー ガレット	イギリス国 エヌジー9 2ディーディー	ノッティンガムシャ ー, ビーストン, ロウアー	リージェント ストリート 157